 doi 10.3969/j.issn.1673-4254.2016.07.16 J South Med Univ, 2016, 36(7): 964-968

流行病学调查

广西人群中白介素-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T多态性的分布特点

郭 静[1],向 阳[2],黄华佗[2],彭友帆[2],韦叶生[2],蓝 艳[1]
右江民族医学院附属医院[1]皮肤科,[2]检验科,广西 百色 533000

摘要:目的 研究探讨IL-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T两位点的多态性在广西壮、汉族人群中的分布特点。分析各基因型及等位基因的分布频率在广西人群中种族、性别间的差异。**方法** 采用单碱基延伸法(PCR-SEB)及DNA测序对283例受试者的IL-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T位点进行多态性分析。用统计学方法分析其分布频率及组间差异。**结果** rs1891385A/C存在AA、AC、CC3种基因型,分布频率分别为64.3%、32.5%、3.2%。其各基因型及等位基因频率在广西人群中壮、汉,男、女性别之间无显著差异(P均>0.05)。其基因型与等位基因频率与人类基因组计划公布的欧洲人、非洲黑人之间均有显著差异(P<0.01)。rs10975519C/T存在CC、CT、TT 3种基因型,分布频率分别为34.3%、53.0%、12.7%。其各基因型及基因频率在广西地区人群中壮、汉,男、女之间也无统计医学意义(P>0.05)。其基因型仅与欧洲人、日本人差异有统计学意义(P<0.01)。其等位基因频率仅与欧洲人群相比差异有统计学意义(P<0.01)。**结论** IL-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T的基因多态性存在着不同程度的种族和地区差异。

关键词: IL-33;基因多态性;广西人群

Distribution characteristics of rs1891385A/C and rs10975519C/T polymorphisms of interleukin-33 gene in Guangxi population

GUO Jing[1], XIANG Yang[2], HUANG Huatuo[2], PENG Youfan[2], WEI Yesheng[2], LAN Yan[1]
[1]Department of Dermatology, [2]Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China

Abstract: Objective To explore the race- and gender-specific distribution characteristics of rs1891385A/C and rs10975519C/T polymorphism of interleukin-33 (IL-33) gene in Zhuang and Han populations. **Methods** The polymorphisms of rs1891385A/C and rs10975519C/T of IL-33 gene in 283 subjects from Guangxi Zhuang Autonomous Region were analyzed with single base extension (PCR-SEB) and DNA sequencing to analyze the differences in their distribution frequencies between genders and between Zhuang and Han populations. **Results** Three genotypes (AA, AC and CC) were found in rs1891385A/C with frequencies of 64.3%, 32.5% and 3.2%, respectively. The genotype and allele frequencies of rs1891385A/C in this Guangxi population showed no significant difference between Zhuang and Han subpopulations and between genders (P>0.05), but differed significantly from those in European and African black populations (P<0.01). Three genotypes (CC, CT and TT) were identified in rs10975519C/T with frequencies of 34.3%, 53.0%, and 12.7%, respectively, showing no significant ethnic or gender-specific differences in this population (P>0.05). The genotype frequency of rs10975519C/T in this population differed significantly from those in the European and Japanese populations (P<0.01), but the allele frequencies only showed significant differences from those in the European population (P<0.01). **Conclusion** rs1891385A/C and rs10975519C/T polymorphisms of IL-33 gene show a race-specific difference.

Key words: interleukin-33; gene polymorphism; Guangxi population

人类在种族、地域间的差异性,归根结底是DNA的分子差异。随着人类基因组扫描的推进我们发现,遗传的多态性是普遍存在于人类基因中一种遗传现象。而在遗传多态中,最常见的就是单核苷酸(SNPS)多态性。它有着稳定,相对多变的双重性质。近年来发现,SNPS多态性不仅仅是人类族群与地域代表的遗传标志,它还与疾病的易感、流行、免疫等方面存在着相关性[1]。白细胞介素33(IL-33)是白细胞介素1(IL-1)家族中的新成员,被Schmitz等[2]发现于2005年。IL-33在炎症、微生物感染、自身免疫性疾病及心血管疾病中及都有所参与且存在着显著的遗传相关性[3-7]。通过查

收稿日期:2016-02-15
基金项目:国家自然科学基金(81260234,81560552);广西研究生教育创新计划项目(YCSZ2015223);右江民族医学院校级课题(yy2015zd001)
Supported by National Natural Science Foundation of China (81260234, 81560552).
作者简介:郭 静,在读硕士研究生,E-mail: gjnsdy-1987@163.com
通信作者:蓝 艳,硕士生导师,教授,E-mail: yylanyan@163.com

找人类基因扫描图谱我们发现，IL-33基因SNPS：rs1891385A/C、rs10975519C/T多态性在其所公布的四个人群中存在着明显差异。我们本次研究的IL-33基因SNPS：rs1891385A/C、rs10975519C/T多态性在广西壮、汉人群中的分布，在国内外均是首次报道。望为IL-33基因多态性在地域、种族间的分布提供更多的研究基础。

1 对象和方法

1.1 对象

研究对象共283人，男72例，女211例。年龄19~65岁。其中壮族192例，汉族91例，民族筛选界定条件为：三代直系亲属中均为本民族的健康体检者。样本均取自右江民族医学院附属医院体检中心。所有研究对象均为广西地区，相互无血缘关系。以上研究对象均签署知情同意书。此研究已通过本单位的伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取　取静脉血2 mL，加入EDTAN2抗凝。用(亚能生物TM全血DNA快速提取试剂盒)提取DNA，-70 ℃保存。

1.2.2 引物的合成　通过primer3在线软件(http://primer3.ut.ee/)设计引物，由上海天昊生物科技有限公司进行合成。rs1891385A/C上游引物：CAAACAAGCAACAAAATCCCACTCA下游引物：AATGGGACCTGACCCTGGACTT延伸引物：TTTTTTTTTTGATTTTGGGTTAGTATTAAAATCTTTrs10975519C/T上游引物：GAGCATATTCGTGCATTTTTGAGACC下游引物：ACCCAGCCCTCCAAATTACCTG延伸引物：TTTTTTTTTTGAGGGGTGTTGAGACTCATA。

1.2.3 PCR扩增及基因测序　扩增反应体系共20 μL，包含1.0 μL模板DNA，2.0 μL PCR缓冲液，2.0 μL dNTPs，1.0 U TaqDNA聚合酶，以及两端引物各1.0 μL。剩余体积用灭菌双蒸水补足20 μL。使用热启动Taq酶(Qiagen公司)进行多重PCR所获得的PCR产物，通过虾碱酶(SAP)(Promega公司)和外切酶Ⅰ(Epicentre公司)进行纯化。延伸反应使用ABI公司的SNaPshot Multiplex kit来进行。延伸产物在ABI3730XL上样并用GeneMapper4.1分析其基因多态性。并采用测序法进一步验证我们的结果。

1.2.4 统计学分析　用SPSS13.0统计软件包分析数据。各位点基因型及等位基因频率采用直接计数法，两组间基因型及等位基因的频率分布差异采用χ^2检验，$P<0.05$代表差异有统计学意义。遗传平衡分析用Hardy-Weinberg平衡检验。

2 结果

2.1 IL-33基因位点rs1891385A/C、rs10975519C/T的基因分型

经Hardy-Weinberg平衡检验分析，两位点基因型均达Hardy-Weinberg平衡，结果具有群体代表性。rs1891385A/C与rs10975519C/T两位点扩增产物分别为273 bp与235 bp。rs1891385A/C存在AA、AC、CC 3种基因型。rs10975519C/T存在CC、CT、TT 3种基因型。基因测序证实了我们的检验结果(图1,2)。

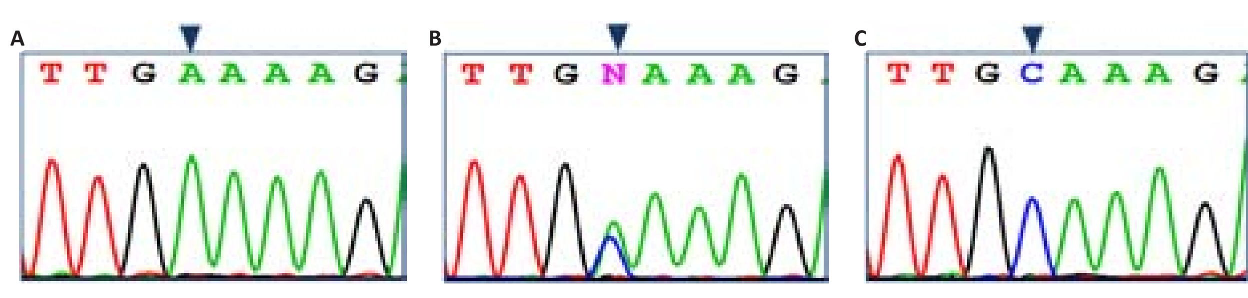


图1 IL-33基因rs1891385A/C测序图

Fig.1 Sequencing map for genotyping of IL-33 gene rs1891385A/C polymorphism. The arrows in panels *A*-*C* show AA, AC and CC genotypes, respectively.

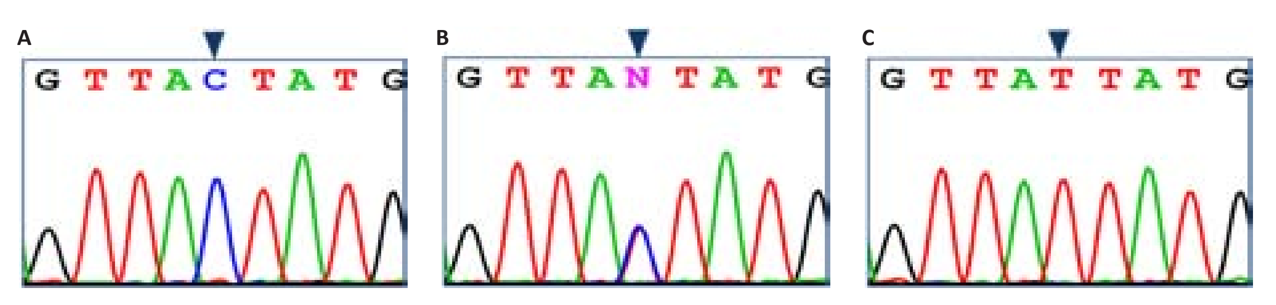


图2 IL-33基因rs10975519C/T测序图

Fig.2 Sequencing map for genotyping of IL-33 gene rs10975519C/T polymorphism. The arrows in panels *A*-*C* show CC, CT and TT genotypes, respectively.

2.2 两位点在广西人群中壮、汉族之间的分布

IL-33基因rs1891385A/C的3个基因型：AA、AC和CC在广西地区壮、汉族之间的分布差异无统计学意义（*P*>0.05）。rs10975519C/T的3个基因型：CC、CT和TT在广西地区壮、汉族之间的分布差异也无统计学意义（*P*>0.05，表1）。

表1 IL-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T基因多态性在壮、汉族间的分布

Tab.1 Distribution of genotype and allele frequencies of IL-33 gene rs1891385A/C and rs10975519C/T in Zhuang and Han populations in Guangxi

RS	Nation	*n*	Genotype frequencies (%)			Allele frequency (%)	
			AA (CC)	AC (CT)	CC (TT)	A (C)	C (T)
Rs1891385	Zhuang	192	123 (64.4)	64 (33.5)	4 (2.1)	310 (81.2)	72 (18.8)
	Han	91	57 (62.6)	32 (35.2)	2 (2.2)	146 (80.2)	36 (19.8)
Rs10975519	Zhuang	192	66 (34.4)	101 (52.6)	25 (13.0)	233 (60.7)	151 (39.3)
	Han	91	31 (34.1)	49 (53.8)	11 (12.1)	111 (61.0)	71 (39.0)

Genotype and allele frequencies of IL-33 gene showed no significant difference among the same group of Zhuang and Han in Guangxi crowd (*P*>0.05).

2.3 两位点基因型及等位基因频率在广西人群中的整体分布

IL-33基因rs1891385A/C的3个基因型：AA、AC和CC在男女两组间分布差异无统计学意义（*P*>0.05）。rs10975519C/T的3个基因型：CC、CT和TT在男女两组间分布差异也无统计学意义（*P*>0.05）。两位点的各等位基因频率在男女两组间分布差异也无统计学意义（*P*>0.05，表2）。

表2 广西人群IL-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T基因型和等位基因频率的比较

Tab.2 Gender-specific distribution of genotype and allele frequencies of IL-33 gene rs1891385A/C and rs10975519C/T in Guangxi population

RS and Gender	*n*	Genotype frequencies (%)			Allele frequency (%)	
		AA (CC)	AC (CT)	CC (TT)	A (C)	C (T)
Rs1891385						
Male	72	46 (63.8)	24 (33.3)	2 (2.8)	116 (80.6)	28 (19.4)
Female	211	134 (63.5)	73 (34.6)	4 (1.9)	341 (80.6)	81 (19.4)
Total	283	180 (63.6)	97 (34.2)	6 (2.1)	456 (80.8)	110 (19.2)
Rs10975519						
Male	72	25 (34.7)	38 (52.8)	9 (12.5)	88 (61.1)	56 (38.9)
Female	211	72 (34.1)	112 (53.1)	27 (12.8)	256 (60.7)	166 (39.3)
Total	283	97 (34.3)	150 (53.0)	36 (12.7)	344 (60.7)	222 (39.2)

Genotype and allele frequencies of IL-33 gene showed no significant difference among the same group of male and female (*P*>0.05).

2.4 两位点基因型及等位基因频率在各种族人群间分布

经分析，广西人群rs1891385A/C各基因型及等位基因的分布频率与欧洲人、非洲黑人相比均有显著性差异（*P*<0.01）。与北京汉族人及日本人相比差异无统计学意义（*P*>0.05）。广西人群rs10975519C/T各基因型分布频率与欧洲人、日本人相比具有显著差异（*P*<0.01）。与非洲黑人、北京汉族人相比无显著差异（*P*>0.05）。其等位基因分布频率仅与欧洲人之间差异有统计学意义（*P*<0.01）。与其他各族人群差异无统计学意义（*P*>0.05，表3、4）。

表3 广西人群rs1891385A/C基因型和等位基因分布频率与各种族人群间的比较

Tab.3 Comparison of the frequency of IL-33 gene rs1891385A/C polymorphism among different ethical and race groups

Group	*n*	Genotype frequencies (%)			Allele frequency (%)	
		AA	AC	CC	A	C
Guangxi people	283	180 (63.6)	97 (34.2)	6 (2.1)	457 (80.7)	109 (19.3)
HapMap-CEU[a]	226	182 (80.5)	40 (17.7)	4 (1.8)	404 (89.4)	48 (10.6)
HapMap-YRI[a]	226	224 (99.1)	2 (0.9)	0 (0.0)	450 (99.6)	2 (0.4)
HapMap-HCB[b]	86	56 (65.1)	24 (27.9)	6 (7.0)	136 (79.1)	36 (20.9)
HapMap-JPT[b]	172	100 (58.1)	62 (36.0)	10 (5.8)	262 (76.2)	82 (23.8)

[a]$P<0.01$ for allele and genotype frequencies *vs* Guangxi population; [b]$P>0.05$ for allele and genotype frequencies *vs* Guangxi population.

表4 广西人群rs10975519C/T基因型和等位基因分布频率与各种族人群间的比较

Tab.4 Comparison of the frequency of IL-33 gene rs10975519C/T polymorphism among different ethical and race groups

Group	*n*	Genotype frequencies (%)			Allele frequency (%)	
		CC	CT	TT	C	T
Guangxi people	283	97 (34.3)	150 (53.0)	36 (12.7)	344 (60.7)	222 (39.2)
HapMap-CEU[a]	118	60 (50.8)	48 (40.7)	10 (8.5)	168 (71.2)	68 (28.8)
HapMap-YRI[b]	120	42 (35.0)	58 (48.3)	20 (16.7)	142 (59.1)	98 (40.8)
HapMap-HCB[b]	90	26 (28.9)	46 (51.1)	18 (20.0)	98 (54.4)	82 (45.6)
HapMap-JPT[c]	90	34 (37.8)	24 (37.8)	22 (24.4)	92 (56.7)	68 (43.3)

[a]$P<0.01$ for allele and genotype frequencies *vs* Guangxi population; [b]$P>0.05$ for allele and genotype frequencies *vs* Guangxi population; [c]$P<0.01$ for genotype frequencies and $P>0.05$ for alleles.

3 讨论

遗传的信息由基因表达，且每个基因的表达都有其重要的意义。自2003年人类基因组扫描计划的完成，基因这个复杂的人体密码逐渐被揭开神秘的面纱。目前，SNPS多态性占已知多态性的90%以上，目前已知的SNPS有1500万个左右。每300~600 bp就会出现一个突变的碱基，这种突变广泛存在于人类基因中[8]。我们知道，两个无血缘种族同源关系的独立人类，其基因的序列有99.9%是一致的，而剩下的0.1%却造成了人类之间的巨大差异。越来越多的研究证实SNP多态性不仅是人类种族、地域间差异的标志之一，也是人类疾病及对药物敏感程度的重要影响因素[9-10]。故研究SNPS在不同人群中的分布，也是揭示人类疾病发生发展的重要途径之一。

广西地处中国西南边界地区，共有40多个民族长期共居，其中，壮族是广西地区的主要民族，其次为汉族。从我们研究的结果可以看出，IL-33的rs1891385A/C、rs10975519C/T两位点与欧洲人群、非洲人群、甚至同为亚洲人的日本人群间表现出了不同程度的差异，这说明IL-33基因这两个位点存在着较强的地域性差异和种族性差异。而在广西人群壮、汉族之间以及北京汉族人之间并无显著差异，这又从另一方面体现了中国南北人群间两位点间的同源性。基因多态性的分布特点因地域不同，种族不同，环境影响和自然选择而存在着很大差异。我们的研究结果体现了这一特点。IL-33是一种多功能炎性因子。在不同的疾病中，其可表现出保护因子或风险因子的双面性[11-14]，且其多态性已被证实与多种疾病相关，有研究表明IL-33基因的rs1891385A/C位点在强直性脊柱炎中A等位基因可能是强直性脊柱炎的保护基因[15-16]。rs1891385A/C、rs10975519C/T位于IL-33基因的内含子区，内含子区的位点的突变有可能会影响基因的转录，影响基因的表达调控和功能[17]。基因在种族间的分布差异，除了是一种对自然环境的选择及进化的结果以外，也可能是某种疾病在某个地域、种族人群中的发病基础。

随着人类基因相关研究技术的发展和完善，基因多

态性的研究不再局限国家与人种等大范围的研究。国家内部的地区之间,民族之间的细致化研究已成为研究的新方向和新热点。基因多态研究的推进,也使得人类医学开始向"精准医学"的方向发展。我们对广西人群IL-33基因rs1891385A/C、rs10975519C/T多态性进行研究并报道,这在国内外均为首次。这不仅为IL-33的基因多态性在人类疾病中研究打下了前期基础,也为中国地区以及民族间的基因扫描尽出了一份绵薄之力。

参考文献:

[1] Mah JT, Low ES, Lee E. In silico SNP analysis and bioinformatics tools: a review of the state of the art to aid drug discovery[J]. Drug Discov Today, 2011, 16(17/18): 800-9.

[2] Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines[J]. Immunity, 2005, 23 (5): 479-90.

[3] Saluja R, Khan M, Church MK, et al. The role of IL-33 and mast cells in allergy and inflammation[J]. Clin Transl Allergy, 2015, 5 (5): 33.

[4] Ni Y, Tao L, Chen C, et al. The deubiquitinase USP17 regulates the stability and nuclear function of IL-33[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16 (11): 27956-66.

[5] Li PP, Zhang XM, Yuan D, et al. Decreased expression of IL-33 in immune thrombocytopenia[J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28(1): 420-4.

[6] Matta BM, Turnquist HR. Expansion of regulatory T cells *in vitro* and *in vivo* by IL-33[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1371(6): 29-41.

[7] 倪 倩, 胡世莲, 尹 辉. IL-33与人类疾病关系的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2013, 36(5): 355-8.

[8] Jiang R, Duan J, Windemuth A, et al. Genome-wide evaluation of the public SNP databases [J]. Pharmacogenomics, 2003, 4(6): 779-89.

[9] International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome[J]. Natrue, 2005, 437(7063): 1299-320.

[10] Zhang W, Ng HW, Shu M, et al. Comparing genetic variants detected in the 1000 genomes project with SNPs determined by the International HapMap Consortium[J]. J Genet, 2015, 94(4): 731-40.

[11] 徐汉杰, 赵卫东. IL-33与免疫细胞的关系[J]. 国际免疫学杂志, 2012, 35(6): 440-4.

[12] 叶迎春, 年四季, 刘佳佳, 等. IL-33与自身免疫疾病[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(8): 1132-7.

[13] Xiangyang Z, Lutian Y, Lin Z, et al. Increased levels of interleukin-33 associated with bone erosion and interstitial lung diseases in patients with rheumatoid arthritis[J]. Cytokine, 2012, 58 (1): 6-9.

[14] Latiano A, Palmieri O, Pastorelli L, et al. Associations between genetic polymorphisms in IL-33, IL1R1 and risk for inflammatory bowel disease[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62144.

[15] Fan D, Ding N, Yang T, et al. Single nucleotide polymorphisms of the interleukin-33 (IL-33) gene are associated with ankylosing spondylitis in Chinese individuals: a case-control pilot study [J]. Scand J Rheumatol, 2014, 43(5): 374-9.

[16] 张青森, 杨庆帆, 陈白莉, 等. IL-33基因单核苷酸多态性与中国南方汉人炎症性肠病临床表型相关[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(5): 902-8.

[17] Jo BS, Choi SS. Introns: the functional benefits of introns in genomes[J]. Genomics Inform, 2015, 13(4): 112-8.

(编辑:孙昌朋)